

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-005296

(43)Date of publication of application : 10.01.1997

(51)Int.Cl.

601N 27/416

A61B 5/00

601N 1/10

601N 27/327

601N 33/50

601N 33/66

(21)Application number : 07-157426

(71)Applicant : BROTHER IND LTD

(22)Date of filing : 23.06.1995

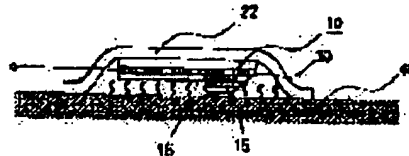
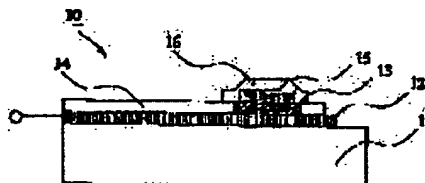
(72)Inventor : YAMAGUCHI MASAKI

(54) BIOSENSOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a small, light-weight, portable, noninvasive biosensor.

CONSTITUTION: Relating to a biosensor 10, an electrode 12 consisting of high conductive material is adherently provided on the upper surface of a base material 11, and a protection electrode 13 consisting of waterproof material is adherently provided on the upper surface of electrode 12. And on a part, where the protection electrode 13 is not provided, on the upper surface of electrode 12, a protection film 14 consisting of high polymer, etc., is provided. The upper surface of protection electrode 13 is provided with an enzyme film 15, and the surface of enzyme film 15 is covered with a separation film 16 for avoiding from secular change. A holding member 22 which holds the biosensor 10 in contact with the surface of an organism 40 is provided. The biosensor 10 detects the amount of biochemical material contained in perspiration 30 from the organism 40.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-5296

(43) 公開日 平成9年(1997)1月10日

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 27/416			G 0 1 N 27/46	3 3 6 B
A 6 1 B 5/00			A 6 1 B 5/00	N
G 0 1 N 1/10			G 0 1 N 1/10	V
27/327			33/50	X
33/50			33/68	A

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 6 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平7-157426

(22) 出願日 平成7年(1995)6月23日

(71) 出願人 000005267

ブラザー工業株式会社

愛知県名古屋市長瀬区苗代町15番1号

(72) 発明者 山口 昌樹

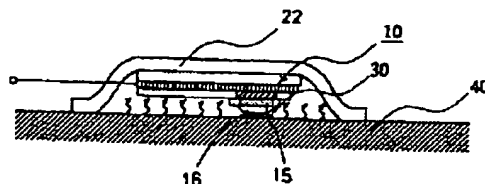
名古屋市瑞穂区苗代町15番1号ブラザー工業株式会社内

(54) 【発明の名称】 バイオセンサ

(57) 【要約】

【目的】 小型、かつ軽量で、携帯可能な非侵襲型のバイオセンサを提供すること。

【構成】 バイオセンサ10は、基材11の上面に高導電性材料から成る電極12を着設し、電極12の上面に耐水性材料から成る保護電極13を着設する。また、電極12の上面で、前記保護電極13が着設されていない部分に、高分子等から成る保護膜14を設ける。前記保護電極13上面に、酵素膜15を設け、酵素膜15の表面は、経時変化を防止するために分離膜16で覆う。また、このバイオセンサ10を生体40の表面に当接した状態で保持するための保持部材22を設ける。そして、バイオセンサ10は、生体40からの汗30に含まれる生化学物質の量を検出する。



3

ば、酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質を有する触媒体と、生体から分泌される汗中に含まれる被測定物質が、前記触媒体に含まれる酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質の存在下で反応を起こすことにより生成される電極検知可能物質の増減を電気的に計測する電極部と、前記電極部によって計測された計測値に基づいて、前記汗中に含まれる被測定物質の量、あるいは濃度を検出する検出手段とを備えているので、小型、かつ軽量で、携帯可能な非侵襲型のバイオセンサを実現することができる。

【0014】また、前記触媒体及び前記電極部を一側に保持すると共に、前記生体の表面に対して、前記触媒体を直接的あるいは、間接的に当接するように保持するための保持部材を備えているので、前記触媒体を生体の表面に対して容易に保持することができる。

【0015】さらに、前記保持部材は、生体の発汗を促進するために生体表面を密着して覆うことが可能なシートによって構成されているので、短時間で、効率よく被測定物質の量、あるいは濃度を検出することができる。

【0016】また、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質はグルコースオキシダーゼであり、前記検出手段は、前記汗中に含まれるブドウ糖の量、あるいは濃度を検出するように構成されているので、非侵襲型で、容易に血糖値を検出することができる。

【0017】さらに、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質は、前記触媒体中において固体の状態で保持されているので、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質を安定した状態で保持することができる。

【0018】

【実施例】以下、本発明のバイオセンサを具体化した実施例を図面を参照して説明する。

【0019】本実施例のバイオセンサの縦断面図を図1に示す。図1に示すように、本実施例のバイオセンサ10は、基材11の上面に高導電性材料から成る電極12が着設され、その電極12の上面に耐水性材料から成る保護電極13が着設されている。前記電極12の高導電性材料としては、金、銀及びプラチナ等の貴金属や、銅、アルミニウム等の金属材料が考えられる。この電極12が、本実施例の電極部を構成している。

【0020】また、前記保護電極13は、電極12に水分が付着して腐食するのを防止するために設けられており、この保護電極13の耐水性材料としては、カーボン等が考えられる。但し、バイオセンサを使い捨て式のセンサとして用いる場合には、あえて保護電極13を設ける必要はない。

【0021】また、電極12の上面で、前記保護電極13が着設されていない部分には、高分子等から成る保護膜14が設けられている。さらに、前記保護電極13上面には、酵素膜15が設けられている。そして、酵素膜

(3)

特開平9-5296

4

15の表面は、経時変化を防止するために分離膜16で覆われている。この酵素膜15が、本発明の触媒体を構成している。

【0022】上記した電極12、保護電極13及び保護膜14の作成方法としては、例えばスクリーン印刷によって形成することができ、前記基材11、酵素膜15の母材、及び分離膜16の材質としては、例えば、図2に示すような材料を用いることができる。

【0023】次に、前記酵素膜15及び分離膜16の作成方法について説明する。

1. 電極12の前準備

1) 純水1 [L] に1 [g] のカルボキシメチルセルロース（以下、CMCと略す）を少量ずつ加えながら1～2時間攪拌した後一晩放置し、0.1重量%のCMC溶液を作成する。

【0024】2) 保護電極13上に単位面積当たり0.8 [$\mu\text{L}/\text{mm}^2$] のCMCを塗布する。

【0025】3) 電極12の劣化を防止するために、出来るだけ低い温度、例えば40℃で1時間乾燥し、CMC層を作成する。

2. 酵素の溶解

例えば、血糖センサを作成する場合には、10 [mg] のグルコースオキシダーゼを67 [mL] の純水に混合し、10 [μM] の酵素溶液を作成する。この時、酵素の失活を防止するために、マグネチックスター等を使用せず、手でゆっくりと攪拌するのが望ましい。

3. 酵素の固定

1) 16.463 [g] のフェリシアン化カリウム（ヘキサシアノ鉄カリウム、 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ）を1 [L] の純水に混合し、50 [mM] のフェリシアン化カリウム溶液を作成する。

【0026】2) CMC溶液、酵素溶液及びフェリシアン化カリウム溶液各々10 [mL] を1:1:1で加えた混合水溶液を作成する。

【0027】3) 混合水溶液を前記CMC層の上に単位面積当たり1.0 [$\mu\text{L}/\text{mm}^2$] 滴下した後40℃で1時間乾燥し、酵素膜15を作成する。

4. 分離膜16の作成（必要に応じて行う）

1) 1 [g] のポリビニルピロリドン（以下、PVPと略す）を100 [g] のエタノールに混合し、約1時間攪拌して1重量%のPVP溶液を作成する。

【0028】2) PVP溶液を酵素膜15上に単位面積当たり0.4 [$\mu\text{L}/\text{mm}^2$] 展開し、40℃で20分間乾燥させて分離膜16を形成する。

【0029】この方法によれば、酵素膜15中の酵素（グルコースオキシダーゼ）は固体の状態で保持されるので、経時的な変化の少ない酵素膜15を得ることができる。

【0030】尚、本発明の酵素膜15に保持される酵素は、上記グルコースオキシダーゼに限定させるものでは

30

40

50

(4)

特開平9-5296

5

なく、酸化還元酵素、加水分解酵素をはじめとして種々の酵素を用いることが可能であり、その結果として、グルコース（ブドウ糖）以外の生体生化学物質、例えば、エタノール、乳酸、尿素、中性脂肪、総コレステロール、あるいはビルビン酸等を測定するセンサを実現することができる。

【0031】ここで、前記バイオセンサ10の2次元形状の一例を図3に示す。図3においては、前記電極12及び保護電極13の形状を明確にするために、前記酵素膜15及び分離膜16を省いた状態を示している。また、電極12及び保護電極13は、各々陽極12a、13a、陰極12b、13bの2つの部分から構成されている。そして、点線Bで示した部分の内側に、前記酵素膜15が形成される。

【0032】次に、上述したようなバイオセンサ10を用い、生体の分泌物である汗に含まれる物質を被測定物質として計測する場合について、図4、5に基づいて説明する。

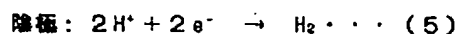
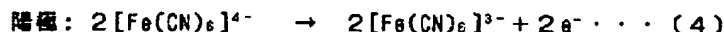
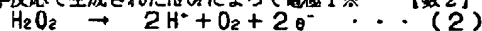
【0033】汗中の被測定物質を計測する場合には、図4に示すように、バイオセンサ10の酵素膜15の表面（分離膜16を設けた場合はこの分離膜16の上面）を生体40の表面に当接した状態で保持するための保持部材22を設ける必要がある。この保持部材22の内側面に、バイオセンサ10の基材11の前記電極12が着設されていない側の面を接着しておき、保持部材22の端部を生体40に貼着することにより、酵素膜15（分離膜16）の表面を生体40の表面に当接させた状態でバイオセンサ10が保持される。

【0034】保持部材22の一部、あるいは全部には、強力な接着力を有すると共に、耐汗性にも優れ、かつ皮*30
グルコースオキシダーゼ

↓



【0039】この時、前記電極12の陽極12a及び陰極12bの間に電源（図示せず）から所定電圧が印加されると、上記化学反応で生成された H_2O_2 によって電極1※



【0041】そして、この陽極12aと陰極12bとの間に流れる電流の時間的変化が、前記CPU50に送られ、図6に示すような特性が得られる。尚、図6中の矢印Aで示される変化は酵素膜15が含む化学物質が汗30中に溶け出す拡散現象に基づく過渡現象であると考えられる。

【0042】ここで、図6中の所定時間 t_1 、 t_2 の電流

6

* 膚の弱い部位でもかぶれ等を生じにくい材質を使用する必要がある。例えば、心電計に用いられる電極のように流動性ペーストやゲルを使用し、生体40の皮膚に貼着可能に構成する。また、前記保持部材22は生体の発汗を促進するために生体40の表面を密着して覆うことが可能なシート状に形成することが望ましい。

【0035】このような保持部材22を設けることにより、前記酵素膜15（分離膜16）を生体40の表面に対して容易に保持することができる。

【0036】また、図5に示すように、バイオセンサ10には、そのバイオセンサ10の電極12からの信号に基づいて、各種演算処理を行うCPU50が接続されており、また、CPU50には、そのCPU50において演算処理がなされる際に参照されるデータを記憶している記憶部51、及びCPU50による演算結果、即ち被測定物質の量、あるいは濃度等を出力するための出力部52がそれぞれ接続されている。このCPU50が、本発明の検出手段を構成している。

【0037】図4に示すように、本実施例のバイオセンサ10を保持部材22により生体40の表面に貼着すると、図4中の矢印で示されるように発汗現象が促進され、前記酵素膜15（分離膜16）の表面に、生体40の分泌物である汗30が接触するようになる。この時、その汗30が電解質となり、前記酵素膜15に保持されている酵素、例えばグルコースオキシダーゼが汗中に溶け出すことになる。その結果、以下に示す化学反応が酵素（グルコースオキシダーゼ）によって触媒される。

【0038】

【数1】

※ 2では電気分解が発生し、以下の化学反応が行われる。

【0040】

【数2】

値に基づいて、初期の電流値 I_0 を演算により求めると、 H_2O_2 の発生量に比例した電流値が得られる。上記式(1)から推測されるように、この H_2O_2 の発生量は前記 $\beta\text{-D-グルコース}$ 、即ちブドウ糖の量に比例しているので、電流値 I_0 は汗30に含まれるブドウ糖の量に比例することが分かる。そして、この電流値 I_0 を用い、CPU50において、前記記憶部51に記憶されているデ

(2)

特開平9-5296

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質を有する触媒体と、
生体から分泌される汗に含まれる被測定物質が、前記触媒体に含まれる酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質の存在下で反応を起こすことにより生成される電極検知可能物質の増減を電気的に計測する電極部と、

前記電極部によって計測された計測値に基づいて、前記汗に含まれる被測定物質の量、あるいは濃度を検出する検出手段と、

を備えたことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項2】 前記触媒体及び前記電極部を一侧に保持すると共に、前記生体の表面に対して、前記触媒体を直接的あるいは、間接的に当接するように保持するための保持部材を備えたことを特徴とする請求項1に記載のバイオセンサ。

【請求項3】 前記保持部材は、生体の発汗を促進するために生体表面を密着して覆うことが可能なシートによって構成されていることを特徴とする請求項2に記載のバイオセンサ。

【請求項4】 前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質はグルコースオキシダーゼであり、前記検出手段は、前記汗に含まれるブドウ糖の量、あるいは濃度を検出することを特徴とする請求項1乃至3のいずれかに記載のバイオセンサ。

【請求項5】 前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質は、前記触媒体中において固体の状態で保持されていることを特徴とする請求項1乃至4のいずれかに記載のバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、非侵襲型のバイオセンサに関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来、酵素のもつ厳密な分子識別機能を巧みに利用したバイオセンサが種々考案されており、これらのバイオセンサを用いることにより、生体の生理活性物質の分析の応用化が進んでいる。

【0003】例えば、糖尿病治療の分野においては、バイオセンサが血糖計測技術に大きな変革をもたらしている。1970年代には、高分子にブドウ糖酸化還元酵素（グルコースオキシダーゼ）を固定化した酵素膜を用いた血糖センサーが開発され、それまで数十分から1時間以上もかかっていた血糖測定が数分で測定できるようになった。

【0004】しかし、これらのバイオセンサは、血液を用いていたので、患者は測定の度に採血しなければならず、肉体的苦痛を伴うという問題があった。また、血液を媒体とするウイルス（B型肝炎、AIDS等）感染の

2

恐れがあり、患者や看護者に常に精神的な不安感を与えるという問題もあった。

【0005】これらの問題点を解決するために、光学的手法を用いた非侵襲型の生理活性物質計測法が提案されており、例えば、七里元亮らの「血糖値の非侵襲的計測法—光学的ブドウ糖センサの開発、BME、Vol. 5、No. 8、pp. 16-21、1991」等が報告されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、光学的手法を用いた非侵襲型の生理活性物質計測法により、例えば血糖を計測する場合、ブドウ糖の吸光度に基づいて血糖値を推定するが、ブドウ糖の吸収光の波長が9～11μmと長いために、その光源として赤外線が必要になる。しかし、現状の赤外線レーザは非常に大型であり、さらに、冷却装置を必要とすることから、計測装置が非常に大型化するという問題があった。また、この種の装置は、一般的に、小型で、携帯可能になることが望まれており、光学的手法を用いた装置では実現できないものであった。

【0007】本発明は、上述した問題点を解決するためになされたものであり、小型、かつ軽量で、携帯可能な非侵襲型のバイオセンサを提供することを目的としている。

【0008】

【課題を解決するための手段】この目的を達成するために本発明のバイオセンサは、酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質を有する触媒体と、生体から分泌される汗に含まれる被測定物質が、前記触媒体に含まれる酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質の存在下で反応を起こすことにより生成される電極検知可能物質の増減を電気的に計測する電極部と、前記電極部によって計測された計測値に基づいて、前記汗に含まれる被測定物質の量、あるいは濃度を検出する検出手段とを備えている。

【0009】また、前記触媒体及び前記電極部を一侧に保持すると共に、前記生体の表面に対して、前記触媒体を直接的あるいは、間接的に当接するように保持するための保持部材を備えていることが望ましい。

【0010】さらに、前記保持部材は、生体の発汗を促進するために生体表面を密着して覆うことが可能なシートによって構成されていることが望ましい。

【0011】また、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質はグルコースオキシダーゼであり、前記検出手段は、前記汗に含まれるブドウ糖の量、あるいは濃度を検出するように構成することが望ましい。

【0012】さらに、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質は、前記触媒体中において固体の状態で保持されていることが望ましい。

【0013】

【作用】上記構成を有する本発明のバイオセンサよ

(5)

特開平9-5296

7

8

一夕に基づいて演算処理がなされ、汗30中のブドウ糖量が求められ、さらに、血糖値が算出される。この算出は、前記記憶部51に前記電流値1と汗30中のブドウ糖量と血糖値との関係が記憶されており、この対応関係に基づいて行われる。また、CPU50において換算された血糖値は、出力部52によって出力される。この出力部52として、例えば、表示装置等のように視覚的に確認できるようなものを用いる。

【００４３】このように、本実施例のバイオセンサによれば、生体４０から自然に発生する汗３０を利用して、その汗３０中に含まれる被測定物質（例えば、ブドウ糖）の量を検出することができるので、従来のように採血による苦痛を伴うことなく、衛生的に生化学物質の計測を行うことができる。

【0044】また、装置の小型化、及び軽量化を図ることができ、携帯することも可能になる。

【0045】さらに、前記保持部材22によって、生体40の発汗が促進されるので、短時間で、効率よく被測定物質の量を検出することができる。

【0046】尚、本発明は、上記実施例に限定されるものではなく、種々の変更を加えることができる。例えば、酵素膜に用いられ、電気分解に寄与する化学物質は、上記フェリシアン化カリウムに限定させるものではなく、種々のイオン化物質、即ち金属や錯塩を用いることが可能である。例えば、ベンゾキノン、ハイドロキノンや、David L W, Alfred R D Jr, Alexander Kらの文献「Electrochemical-Enzymatic Analysis of Blood Glucose and Lactate, Analytical Chemistry, Vol. 42, No. 1, pp. 118-121, 1970」に提案されているように、フェロシアン化カリウムやその誘導体を用いても良い。

【0047】また、本実施例では、汗に含まれる被測定物質の量を検出するように構成したが、濃度を検出するように構成してもよく、この場合、検出に利用した汗の体積を検出する必要があり、その所定の体積中に被測定物質がどれだけ含まれているかによって演算処理を行い、濃度を算出することができる。

[0048]

【発明の効果】以上詳述したことから明らかなように、
本発明のバイオセンサによれば、酵素、あるいは酵素と*

* 同等の働きをする化学物質を有する触媒体と、生体から分泌される汗に含まれる被測定物質が、前記触媒体に含まれる酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質の存在下で反応を起こすことにより生成される電極検知可能物質の増減を電気的に計測する電極部と、前記電極部によって計測された計測値に基づいて、前記汗に含まれる被測定物質の量、あるいは濃度を検出する検出手段とを備えているので、小型、かつ軽量で、携帯可能な非侵襲型のバイオセンサを実現することができる。

0 【0049】また、前記触媒体及び前記電極部を一侧に保持すると共に、前記生体の表面に対して、前記触媒体を直接的あるいは、間接的に当接するように保持するための保持部材を備えているので、前記触媒体を生体の表面に対して容易に保持することができる。

【0050】さらに、前記保持部材は、生体の発汗を促進するために生体表面を密着して覆うことが可能なシートによって構成されているので、短時間で、効率よく被測定物質の量、あるいは濃度を検出することができる。

【0051】また、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質は、前記触媒媒体中において固体の状態で保持されているので、前記酵素、あるいは酵素と同等の働きをする化学物質を安定した状態で保持することができる。

【図面の簡単な説明】

【図１】本実施例のバイオセンサの断面図である。

【図2】本実施例のバイオセンサの分離膜、酵素膜及び基材として使用可能な材質を示す図である。

【図3】本実施例のバイオセンサの上面図である。

【図4】本実施例のバイオセンサの断面図である。

【図5】 バイオセンサの概略的構成を示す図である。

【図6】 バイオセンサの電気特性を示す図である。

【符号の説明】

10 バイオセンサ

1 2 電極

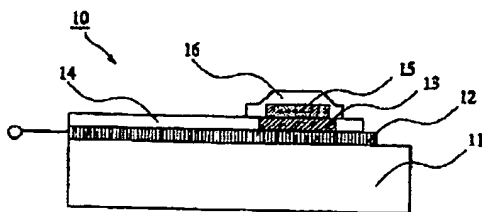
15 醛毒腫

22 保持部材

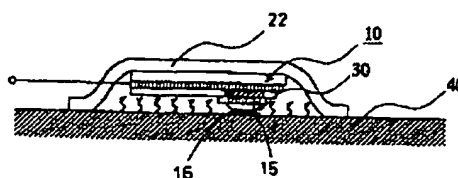
30 汗

40 生体

【图 1】



【图4】



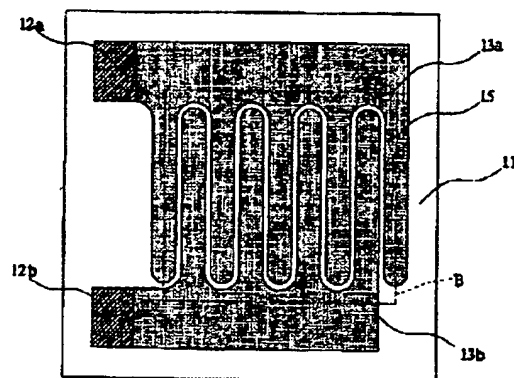
(6)

特開平9-5296

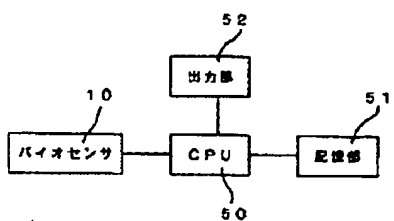
【図2】

項目	選択可能な材質
分離膜	セルロース ポリエチレンイミン ポリアミド ポリウレタン ポリビニルアルコール
貯蔵膜	セルロース系高分子 (セルロース、7-ヒドロキシ-4-メチル-2-ピロソールなど) 多糖類 (セファデックス、キタクトなど) 蛋白質 (ゼラチン、コラーゲンなど) 水溶性高分子 (DNC、PVPなど) 合成有機高分子 (ポリ塩化ビニル、ポリアミドなど) 無機物質 (ガラス、シリカ、アルミナなど)
基 材	ポリエチレンテレフタレート ポリアミド ポリカーボネート 無機物質 (セラミックス、ガラス)

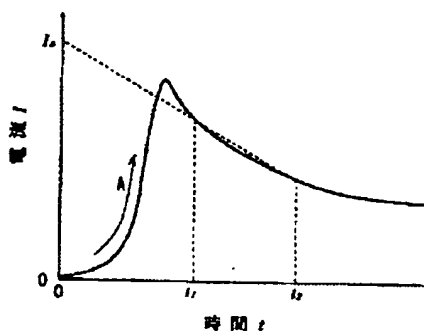
【図3】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.

G 0 1 N 33/66

識別記号

庁内整理番号

F I

G 0 1 N 27/30

27/46

技術表示箇所

3 5 3 J

3 8 6 Z

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.